

氏 名	水原 尚子
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	第 5406 号
学位授与年月日	平成 21 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項
学位論文名	糸状菌に対する形態異常誘起物質の探索と生物活性に関する研究 (Isolation, Structure Identification and Activity of Metabolites Inducing Hyphal Morphological Abnormalities in Filamentous Fungi)
論文審査委員	主 査 教 授 飯尾 英夫                      副 査 教 授 大船 泰史 副 査 教 授 木下 勇                      副 査 教 授 田中 俊雄

### 論文内容の要旨

深在性真菌症に対する治療薬選択の幅を広げるため、副作用のより少ない新規抗真菌性抗生物質の探索と、その作用機構を明らかにすることを目的とし、糸状菌に対する形態異常誘起物質の構造解析と生物活性に関する研究をおこなった。

放線菌 *Streptomyces* sp. HA 125-40 株が生産する物質が、深在性真菌症の原因菌 *Mucor mucedo* IFO 7684 の菌糸に形態異常を誘起することを見出した。その活性本体は、cyclothiazomycin B1 であることをデグラデーションおよび種々のスペクトル解析から明らかにした。また、放線菌 *Streptomyces* sp. HA 81-2 株が生産する物質は、深在性真菌症の原因菌 *Aspergillus fumigatus* IFO 5840 の菌糸に形態異常を誘起した。スペクトル解析からその活性本体を phoslactomycin E (PLME) と同定することができた。

膜タンパク質を用いた細胞壁合成酵素阻害実験から、PLME は細胞壁の主要構成成分である 1,3- $\beta$ -D-グルカン合成酵素の活性を阻害することを明らかにした。その阻害活性は、真菌の細胞壁合成阻害剤として現在唯一用いられている micafungin と比べて弱かったが、細胞壁合成酵素サブユニット欠損株を用いた生育阻止実験を行い、PLME の作用機構は micafungin のそれとは異なっていることを明らかにした。PLME が *A. fumigatus* IFO 5840 細胞のどの場所に局在し、形態異常に関与しているのかを観察するため、PLME に coumarin 誘導体を用いて蛍光標識化しようと試みた。

PLME の構造において、活性発現に必須な部位は未だ明らかになっていないがリン酸基にエステル結合で蛍光標識を導入しても活性にあまり影響しないと考えた。

4-Diazomethyl-7-methoxycoumarin を用いてリン酸エステル化反応を行い、微量ではあるが PLME の coumarin 蛍光標識体を合成した。

### 論文審査の結果の要旨

糸状菌に属する *Aspergillus* 属や *Mucor* 属の真菌によるアスペルギルス症やムコール症などは、皮膚表面における真菌の増殖による表在性真菌症と異なり、体内の臓器で真菌が増加することにより引き起こされる深在性真菌症として知られている。後天性免疫不全症候群などの患者にはこれらの真菌による日和見感染が重篤な感染症となるため、深在性真菌症に対する抗真菌剤の開発がのぞまれている。一方、真菌は真核生物であり真菌への選択毒性を示す薬剤の開発は困難である。最近、真菌に特異的な細胞壁の主要構成成分である 1,3- $\beta$ -D-グルカンの生合成阻害剤 micafungin が開発された。真菌の細胞壁合成阻害は菌糸形態異常を引き起こすと期待できることから、本研究では、この菌糸形態異常を指標に放線菌をスクリーニングした結果えられた 2 つの有望株を選び、その活性成分について検討している。

第一章では、糸状菌に対する形態異常誘起を指標に *Streptomyces* sp. HA 125-40 株と *Streptomyces* sp. HA 81-2 株が生産する形態異常誘起物質 1 および 2 を単離精製し、その分解反応や各種機器スペクトルで詳細に構造解析した結果、それぞれ構造既知の cyclothiazomycin B1 と phoslactomycin E (PLME) であると同定した。

第二章では、形態異常誘起物質 1 (cyclothiazomycin B1) と形態異常誘起物質 2 (PLME) の生理活性を検討している。抗真菌活性に関しては、cyclothiazomycin B1 は *Mucor* 属や植物病原菌である *Fusarium* 属に顕著な生育阻害活性を認めた。他方、PLME は *Aspergillus* 属に強い生育阻

害活性を認めた。各種真菌類への生育阻害活性の差異から、PLME の活性発現は細胞壁の主要成分である 1,3- $\beta$ -D-グルカンの生合成阻害と考え、micafungin との比較や、出芽酵母の 1,3- $\beta$ -D-グルカン合成酵素サブユニット欠損株を用いた生育阻止実験の結果から、PLME の阻害活性は micafungin とは異なる阻害メカニズムであると結論づけている。

第三章では、PLME の真菌細胞内での局在性と菌糸の形態異常を引き起こす原因を探索する目的で、PLME のクマリン蛍光プローブ開発の研究を行っている。モデル化合物でプローブ誘導化の反応性を検討し、その反応を活用して合成を検討した。目的とする PLME 蛍光プローブの最終的な構造確認には至っていないものの、蛍光標識化 PLME の合成に目途をつけた。

以上のように、本論文では深在性真菌症に対する抗真菌剤の探索研究を行い、二つの有望な活性物質を同定し、それらの真菌類に対する生育阻害活性を確認した。さらに、PLME の細胞壁合成阻害機構に新たな知見を得ており、深在性真菌症に対する抗真菌活性発現機構の解明に寄与した。よって、博士（理学）の学位を授与するに値すると審査した。